

115例HBsAg携带者的聚合人血清白蛋白PHSA受体的研究

米竹君¹ 朱万孚¹ 韩纯学² 张国庆¹ 钟海林³ 何培英¹ 田庚善¹

摘要 用ELISA方法检测HBsAg携带者的PHSA受体，共检测406份血清。HBeAg阳性者中PHSA受体的阳性率为62.2%（28/45），正常人中阳性率为1.25%（1/80）。HBsAg携带者的PHSA受体测定与HBV-DNA试验结果一致率为88.09%。115例的HBsAg携带者的PHSA受体的年龄分布是0~20岁组PHSA受体阳性率为63.04%（29/46），21~40岁组20.0%（9/45），41岁以上8.33%（2/24）。（ $\chi^2=51.31, P<0.005$ ）。以小年龄组阳性率最高。9户HBsAg携带者家庭中46名HBsAg阴性成员中无一例PHSA受体阳性。

关键词 HBsAg携带者 聚合人血清白蛋白（PHSA）受体 酶联免疫吸附试验

自Matuhashi（1972）报告肝炎病人血清中PHSA受体以后，Lenkei（1977）、Imai（1979）和Thung（1981）相继报告HBsAg和肝细胞上有PHSA受体。Machida（1984）^[1]对PHSA的结构进行了研究。HBsAg的PHSA受体与HBeAg、DNA-多聚酶活力及血清的感染性明确相关^[2]，是一种灵敏的传染性指标。国内检测PHSA受体主要用PHA方法。用ELISA的尚少，而且主要用来研究临床病人。其结果差别较大，如HBeAg阳性标本的PHSA受体阳性率有22.2%^[3]和94.16%^[9]。因此，我们建立自己的ELISA方法并用以对HBsAg携带者试验及作流行病学分析。

材料和方法

一、标本 经ELISA方法在河北省任丘县邢村大队216户1226人中查出HBsAg携带者115人，携带率为9.38%（115/1226）。这115例携带者的血清作为本研究的标本。

乙肝病人血清156份自北京市中医院及北京医科大学第一医院收集。

二、ELISA试剂及试验方法

1. PHSA 人血清白蛋白系卫生部北京生物制品研究所产品。按Leukei^[3]的方法将人血清白蛋白聚合并纯化。经聚丙酰胺平板电泳鉴定为单一的大分子聚合体。

2. 辣根过氧化物酶标记马抗HBs 辣根过氧化物酶为Sigma VII型，RZ=3.0。马抗HBs纯抗体是卫生部北京生物制品研究所产品。用改良过碘酸盐法标记。工作稀释度为1:4000。

3. 聚乙烯微孔（8×12）板是天津有机玻璃厂出品的。

4. 试验方法 用pH9.6碳酸盐缓冲液稀释PHSA（1:100），包被聚乙烯微孔反应板，每孔100μl。置4℃过夜。用0.2M Tris-吐温缓冲液洗3次，每次3分钟。再加PBS-吐温稀释的待检标本，每孔100μl。置37℃作用1½小时后洗3次，每次3分钟。每孔加1:4000稀释的酶标记马抗HBs100μl，37℃作用1小时后，洗3次，每次3分钟，加底物邻苯二胺缓冲液，显色15分钟，用2M H₂SO₄终止。

1 北京医科大学

2 北京市中医院

3 河北省沧州地区卫生防疫站

5. 结果判定 从反应颜色看，阴、阳分明。故可用肉眼及分光光度计判定结果。

肉眼判定：阳性结果呈桔黄色、阴性结果为无色。

分光光度计(492nm)判定：PHSA受体阴性血清的O.D值 $\bar{X} + 3\delta$ 为临界值。大于者为阳性，小于者为阴性。

表1 HBsAg的PHSA受体与HBeAg、抗HBe的关系

HBsAg(+)			HBsAg(-)		
PHSA受体	HBeAg(+)抗-HBe(+)	e系统(-)	HBeAg(-)	肝炎病人	ALT正常人
(ELISA 试验)			(双扩试验)	血 清	血 清
试验例数	45	12	11	79	21
阳性例数	28	0	0	21	3
%	62.2	0	0	26.59	14.28
					1.25

体阳性率高。而双扩散试验测定HBeAg阴性标本中PHSA受体的阳性率偏高，说明双扩散试验灵敏度差，其中有HBeAg假阴性所致。

二、PHSA受体与HBsAg滴度之间的关系 结果见表2。

表2 PHSA受体与HBsAg滴度之间的关系

PHSA受体	HBsAg 滴度(倒数)		
	4096	2048-128	64-8
试验例数	19	51	35
阳性例数	19	20	1
%	100	39.2	2.85

$$\chi^2 = 19.98 \quad P < 0.005$$

表2说明HBsAg的滴度高的，PHSA受体阳性率也高。HBsAg滴度高的传染性强，PHSA受体是传染性指标，这二者是符合的。

三、PHSA受体的滴度与HBsAg滴度之间关系 HBeAg及HBsAg均阳性的有33例，其中有22例PHSA受体阳性。这22例中HBsAg滴度为1:4096的有19例，1:2048有1例，1:1024有2例。HBsAg滴度为1:4096中有13例PHSA受体为1:160；3例的受体为1:80；2例为1:40，1例为1:20。HBsAg滴度为1:2048的受体滴度为1:20，HBsAg滴度为1:

试验结果

一、HBsAg的PHSA受体与e系统之间的关系 对e系统各项指标与PHSA受体之间的相互关系进行试验来检查自制试剂的可靠性程度，结果见表1。

表1中ELISA检测HBeAg阳性的PHSA受

1024的受体滴度为1:160。经统计学处理测相关系数 $r = 0.01764$, $P > 0.5$ 。即不相关。

四、PHSA受体与HBV-DNA的关系 对42份HBsAg阳性血清标本测定PHSA受体和HBV-DNA。结果是18份两种试验为阳性，19份两种试验均为阴性。两试验一致率为88.09%。有3份HBV-DNA为阳性，而PHSA受体为阴性，另外两份PHSA受体为阳性，HBV-DNA为阴性， $\chi^2 = 0.4$, $P > 0.5$ 。说明两种试验结果基本一致。也说明病毒复制与其传染性之间密切关系。

五、对115例HBsAg携带者PHSA受体检测结果 按性别、年龄分布列于表3。

表3 115例HBsAg携带者PHSA受体测定结果

年龄	男		女		合计	
	PHSA受体(+) 例	PHSA受体(+) %	PHSA受体(+) 例	PHSA受体(+) %	PHSA受体(+) 例	PHSA受体(+) %
0~20	18/23	78.26	11/23	47.82	29/46	63.04
21~40	5/23	21.74	4/22	18.98	9/45	20.0
41以上	2/11	18.18	0/13	0	2/24	8.33
小计	25/57	43.85	15/58	25.86	40/115	34.78

$$\chi^2 = 50.26$$

$$P < 0.005$$

$$\chi^2 = 23.24$$

$$P < 0.005$$

$$\chi^2 = 51.31$$

$$P < 0.005$$

表3说明PHSA受体的年龄分布有极显著差异，年龄越小，阳性率越高。0~20岁组的阳性率最高，这一组在携带者中所占的比例又很大(40%)，应当引起人们的关注。

为了解HBsAg携带者家庭中其他成员的PHSA受体情况，共检测了9个家庭46人，其中HBsAg携带者13人，携带率已达28.26%。但HBsAg阴性的33例中无一例受体阳性。其中有一户五口人之家中有4人HBsAg阳性，这4例中PHSA受体阳性的有3例。唯一的一例HBsAg阴性者的PHSA受体亦是阴性。即在HBsAg携带者家庭中，HBsAg阴性者PHSA受体亦阴性。这说明文献中报道的正常人群中发现的PHSA受体阳性者与HBsAg感染无关。

讨 论

PHSA受体与乙肝的发病机理和疾病转归密切相关，是乙肝的一种传染性指标。检测PHSA受体的方法有PHA，RIA，ELISA及IF等。1985年Okamoto^[4]报告单克隆抗体血凝试验检测HBV基因的前S-区的方法。由于检测PHSA受体的方法不同，试剂来源不一等原因，检测PHSA受体的结果很不一致。如慢性活动性肝炎的PHSA受体的阳性率由43.3%到100%，PHSA受体与HBeAg阳性符合率范围是19~94.16%。抗HBe阳性血清的PHSA受体阳性率在0~25%。我们的结果是HBeAg阳性血清的PHSA受体阳性率为62.2%，12份抗HBe阳性者中PHSA受体均为阴性。这是急性期时HBeAg阳性血清对PHSA结合力很强，到恢复期时HBeAg阴性，抗HBe出现，与PHSA结合力即消失。

测定HBsAg阳性血清的HBV-DNA和PHSA受体，两试验的一致率为88.09%，经统计学计算，两法结果基本一致($\chi^2=0.4$, $P>0.1$)，这与病毒复制时有PHSA受体的多肽装配入HBsAg外壳形成有传染性病毒颗粒的理论是一致的。

HBsAg的滴度与PHSA受体之间的关系

是密切相关的。HBsAg滴度高的，PHSA受体阳性率也高($\chi^2=19.98$ $P<0.005$)。而PHSA的滴度与HBsAg的滴度无关($r=0.0176$, $P>0.5$)。

本试验的方法在正常人中PHSA受体阳性率为1.25%，而HBsAg携带者家庭中HBsAg阴性者中无一例阳性，这一方面说明正常人中PHSA受体是其他原因引起的，另一方面也说明我们建立的方法的特异度和灵敏度都较为可靠。我们用这方法研究HBsAg携带者的PHSA受体分布情况。115例HBsAg携带者中PHSA受体阳性的共40例(34.78%)，男性阳性率(43.85%)似乎高于女性(25.86%)。经统计学处理($\chi^2=1.7568$ $P>0.1$)无差异。而PHSA受体的年龄分布是随着年龄的增长，PHSA受体阳性率明显下降。无论是男性或女性的不同年龄组的PHSA受体阳性率均有显著差异(男性的 $\chi^2=50.26$ $P<0.005$ ，女性的 $\chi^2=23.24$ $P<0.005$)。这与我国的HBsAg无症状携带者的年龄分布是一致的^[5]。与HBeAg的年龄分布也是一致的^[6]。这是因为小年龄人群中新近感染的多，在感染初期PHSA受体结合活性呈阳性，以后滴度下降，在3~6月后转阴。从病毒分子生物学角度来看，当HBV复制时能翻译PHSA受体，非复制时HBV-DNA整合于宿主DNA，产生HBsAg，而不产生或仅产生少量PHSA受体。小年龄的人群容易感染，新感染率高，病毒处在复制阶段，HBeAg阳性率高，PHSA受体阳性率高。这导致了PHSA受体在年龄分布上有明显差异。年青携带者多为病毒复制性感染。有必要认真对待婴幼儿及小年龄人群疾病控制问题。这不仅关系着小年龄组人群的身体健康，而且对降低发病率，控制肝炎的传播都非常重要。

Study on Polymerized Human Serum Albumin Receptor (PHSA-R) in 115 HBsAg Carriers. Mi Zhujun, et al., Beijing Medical University, et al

The PHSA-R was detected by ELISA method

in 115 HBsAg carriers. The positive rate PHSA-R was 63% (28/45) in HBeAg positive sera. But only 1 out of 80 HBsAg negative health subjects was PHSA-R positive. We also compared the results of this ELISA method with HBV-DNA assay. The coincident rate was 88.09%. The positive rate of PHSA-R in different age groups was: 0-20-69.0% (29/46), 21-40-20.0% (9/45), over 41-8.33% (2/24). ($\chi^2 = 51.31$ $P < 0.005$), A significant difference was found among these three age groups. It was interesting that there was no PHSA-R positive serum in 46 HBsAg-negative sera from 9 HBsAg carriers' families.

Key Words HBsAg carrier Polymerized human serum albumin receptor (PHSA-R) ELISA

参 考 文 献

1. Machida A. A polypeptide contain 55 amino acid residues coded by the pre-s region of hepatitis virus deoxyribonucleic acid bears the receptor for polymerized human as well as chimpanzee albumin. *Gastroenterology* 1984; 86: 910.
2. Imai BS. A receptor for polymerized human and chimpanzee albumin on hepatitis virus particles co-occurring HBeAg. *Gastroenterology*

3. Lenkei R. Method for detection of anti-albumin autoantibodies in hepatic diseases. *J. Immunol method* 1977; 16 (1): 23.
4. Okamoto H. Hemagglutination assay of polypeptide coded by the pre-s region of HBV DNA with monoclonal antibody: correlation of pre-s polypeptide with the receptor for PHSA in serum containing HB antigen. *J. Immunol* 1985; 134: 1212.
5. 黄晓莉. HBsAg无症状携带者. 国外医学微生物学分册 1985; (5) 3: 113.
6. Yun-Fan Liaw. Age-specific prevalence and significance of hepatitis B e antigen and antibody in chronic hepatitis B virus infection in Taiwan. A comparison among asymptomatic carriers, chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J. Med Virology* 1981; 13: 385.
7. Dusheiko GM. Replication of HBV in adult carriers in an endemic area. *J Inf Dis* 1985; 152: 3566.
8. 武建功, 第一届全国非放射性免疫标记技术会议材料, 1985.
9. 虞涤霞. 武汉研究出乙型肝炎检测新方法. 健康报 1986.2.11.

海南岛正常人群斑点热立克次体血清抗体调查简讯

中山医科大学

冯慧敏 易 庆* 庞慧玲 涂裕英

海南大学医学部

林碧瑚 周少元 林 海

国内学者于1958年通过血清流行病学调查最早提出在我国内蒙地区有斑点热立克次体存在的可能。1963年在黑龙江省虎饶地区发现病例并从动物和蜱分离出立克次体。1973年在新疆精河县捕获的草原革蜱分离出斑点热群立克次体。以后进一步通过血清流行病学及病原体鉴定证明内蒙及新疆有斑点热存在。抗原性分析结果证明我国分离的斑点热立克次体与国外其他斑点热群立克次体的抗原性有交叉但不完全相同, 具有我国地方株独特的抗原性。1981自云南西双版纳地区对原因不明热病例11例进行血清学调查及病原体分离, 2例病人血标本接种豚鼠后, 在恢复期的豚鼠血清中测得对斑点热立克次体的低滴度抗体, 提出云南地区也可能有斑点热存在。因此斑点热在我国并不

是罕见病, 而且分布地区可能相当广。在华南地区是否也有斑点热群立克次体的存在尚未有报道。

1985年我们在海南岛进行恙虫病血清流行病学调查过程中, 共检测了402份正常人群血清与斑点热立氏立克次体抗原(Dr. D. H. Walker, University of North Carolina 赠与)的间接免疫荧光反应, 其中1:40以上阳性者6例(这6份阳性血清滴度均>1:100)占1.5%, 由于华南地区从未有斑点热报告, 因而我们采用≥1:40作为阳性界线, 若采用国内株或地方株可能会获得更高的阳性率。初步结果提示在我国海南岛也可能有斑点热群立克次体存在。

* 现地址, 广州暨南大学医学院